

Die mineralische Nahrung der niederen Pilze

(I. Abhandlung)

von

Hans Molisch

c. M. k. Akad.

Unsere derzeitigen Kenntnisse über die anorganischen Nährstoffe der Pilze stützen sich vornehmlich auf die Untersuchungen C. Nägeli's.¹ Seine einschlägigen Anschauungen haben allgemeine Anerkennung gefunden und werden widerspruchslos in den hervorragendsten Lehr- und Handbüchern der Botanik vorgetragen. In seiner Arbeit: »Die Ernährung der niederen Pilze durch Mineralstoffe«¹ spricht sich der genannte Autor über die mineralische Nahrung der niederen Pilze folgendermassen aus: »Die Pilze bedürfen, wie die übrigen Pflanzen, ausser den Verbindungen, die ihnen Kohlenstoff, Wasserstoff, Sauerstoff und Stickstoff zuführen, noch gewisser mineralischer Stoffe, deren Anwesenheit bei dem Chemismus nothwendig ist, oder deren Elemente in die Constitution der Substanz eintreten. Aber die Pilze machen bezüglich der Auswahl verhältnissmässig geringe Ansprüche. Sie können mit vier Elementen auskommen, nämlich 1. Schwefel, 2. Phosphor, 3. einem der Elemente Kalium, Rubidium oder Cäsium, 4. einem der Elemente Calcium, Magnesium, Baryum oder Strontium, während die höheren grünen Landpflanzen zugleich Calcium und Magnesium und überdem noch Chlor, Eisen und Silicium bedürfen«.

¹ Sitzungsberichte der kgl. bair. Akad. der Wissenschaften in München. Nachtrag zur Sitzung der mathem.-physik. Classe vom 5. Juli 1879, S. 458 der botanischen Mittheilungen von C. Nägeli, III. Bd.

Die vorliegende Abhandlung bezweckt auf Grund neuer Untersuchungen zu zeigen, dass Nägeli's Lehre nicht zu geringem Theile auf Täuschungen beruht, die zweifellos durch Anwendung relativ unreiner Nährmaterialien hervorgerufen wurden.

Damit soll gegenüber dem grossen und verdienstvollen Botaniker kein Vorwurf ausgesprochen werden, denn ich habe während meiner nahezu dreijährigen Versuche mich vielfach überzeugt, wie selbst die kleinsten Spuren gewisser mineralischer Verbindungen, falls nicht durch zeitraubende Manipulationen ihre Menge auf ein unwirksames Minimum herabgedrückt wird, den wahren Sachverhalt verdecken können.

Die Nährlösungen für Pilze müssen, wenn sie über das Aschenbedürfniss dieser Aufschluss geben sollen, mit viel grösserer Sorgfalt bereitet werden, als für grüne phanerogame Pflanzen. Mit einer Sorgfalt, die nicht genug betont werden kann. Ich habe mich bereits früher über diesen Punkt ausgesprochen, als ich über die Nothwendigkeit des Eisens für *Aspergillus niger* Versuche anstellte.¹

Die Methodik bei meinen jetzigen Ernährungsversuchen war im Wesentlichen dieselbe, wie bei meinen früheren Versuchen, wesshalb ich, um Wiederholungen zu vermeiden, einfach darauf verweise.¹ Es sei nur kurz hervorgehoben, dass das destillirte Wasser nach der Methode von Stas bereitet wurde, dass die mineralischen Nährmaterialien, obwohl im reinsten Zustande des Handels gekauft, einer zwei- bis viermaligen Umkrystallisation unterworfen, oder wie das Chlorammonium einer Sublimation unterzogen wurden.

Die organischen Nährstoffe, wie Glycerin und Alkohol, unterwarf ich der Destillation, das essigsäure Ammon stellte ich aus seinen beiden flüchtigen Componenten dar. Die Cultur der Pilze erfolgte in mit Watte verschlossenen Erlenmeyer'schen Kolben. Bezüglich aller dieser Einzelheiten vergleiche man meine citirte Schrift.²

¹ Molisch H., Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen. Jena 1892, S. 105.

² L. c. S. 105.

I.

Die Nothwendigkeit des Eisens für niedere Pilze.

Als ich seinerzeit *Aspergillus niger* in Nährlösungen bei Darreichung von Glycerin oder Zucker mit und ohne Eisenzusatz cultivirte, ergab sich stets ein bedeutend grösseres Pilzgewicht in den mit Eisen versetzten Lösungen.¹

Glycerin, besonders aber Zucker konnte ich trotz aller darauf verwendeter Mühe nicht aschefrei darstellen. Viel vollkommener gelingt dies mit essigsauerm Ammoniak, wofern man die beiden Componenten durch Destillation in möglichst reinem Zustande gewinnt und aus diesen dann durch Vereinigung essigsaueres Ammoniak erzeugt. Bei Verwendung solchen organischen Nährmaterials wird der Eisengehalt auf ein solches Minimum herabgedrückt, dass der Eisenmangel sich in der Art der Pilzvegetation in höchst auffallender Weise kundgibt: »In den Gefässen ohne Eisenzusatz entwickelte sich auch nicht ein einziges Fruchtköpfchen, während in den Gefässen mit Eisenzusatz eine Unmasse solcher vorhanden war. Schon der blosse Anblick der beiden Culturen mit freiem Auge war insoferne überraschend, als die Pilzdecke in den ersteren Gefässen schneeweiss, die der anderen infolge der überreichen Sporenbildung kohlschwarz war.«²

Die nicht fructificirenden Pilzdecken enthielten, wie eine Prüfung der Asche ergab, kleine Eisenmengen. Diese genügten zur Ausbildung der Mycelien, nicht aber zur Fructification. Zur vollkommenen Entwicklung des *Aspergillus niger* von Spore zu Spore ist Eisen demnach nothwendig.

Seither habe ich die *Aspergillus*-Versuche wiederholt und mannigfach variirt und bin dabei von der Nothwendigkeit des Eisens für diesen Pilz nur noch mehr überzeugt worden. Unter Anderem wurden auch Versuche später mit sterilisirten Nährlösungen gemacht, da sich sonst in manchen Versuchsgefässen Bacterien einstellen, die die Entwicklung von *Aspergillus* hemmen. Aber auch diese Versuche ergaben mit Bezug auf das Eisenbedürfniss dasselbe Resultat.

¹ L. c. S. 109—113.

² L. c. S. 114—115.

Schliesslich wurden die Versuche auf drei andere Pilze ausgedehnt — auf *Penicillium*, *Mucor racemosus* und Presshefe. Leider gedeihen diese Pilze in essigsauerm Ammoniak sehr schlecht, wesshalb ich von diesem relativ so reinen organischen Nährstoffe absehen und zu dem relativ unreinen Zucker meine Zuflucht nehmen musste. Es war demnach von vorneherein in den sogenannten »eisenfreien« Gefässen Fructification zu erwarten.

Trotz des Eisengehaltes des Zuckers war der Unterschied in der Entwicklung der Pilze in den Gefässen mit und ohne Eisenzusatz ein so auffallender, dass auch diese Experimente, namentlich im Zusammenhange mit den *Aspergillus*-Versuchen entschieden für die Nothwendigkeit des Eisens bei der Ernährung des grünen Pinselschimmels des *Mucor* und der Hefe sprechen.

Dass man bisher das Eisen als für die Ernährung der Pilze ganz bedeutungslos und nicht nothwendig hingestellt hat, liegt in verschiedenen Gründen. Vor Allem kommt hiebei die That- sache in Betracht, dass bei den grünen Pflanzen ohne Eisen keine Chlorophyllbildung eintritt, das Eisen also in einer Beziehung zu dieser steht. Da nun die Pilze kein Chlorophyll bilden, so hat man unlogisch auch das Eisen als für den Pilz überflüssig erklärt. Man glaubte sich zu dieser Auffassung um so mehr berechtigt, als man den Chlorophyllfarbstoff selbst für eine Eisenverbindung hielt. Die Unrichtigkeit dieser Annahme geht bereits aus meinen früheren Experimenten hervor.¹ Hiezu kommt, dass man in Nährlösungen, bei welchen nicht auf sehr sorgfältige Reinigung der einzelnen Bestandtheile geachtet wurde, Pilze auch ohne Eisenzusatz zur Entwicklung brachte. Man hat eben nicht gewusst, dass es unmöglich ist, derzeit vollständig eisenfreie Nährlösungen herzustellen. Es wurde bereits von Nägeli² und von A. Meyer³ betont, dass in sorgfältig bereiteten Nährlösungen, in welchen Schwefel und Kalium

¹ Molisch H., l. c. S. 81.

² Nägeli C., l. c. S. 459 und 477.

³ Meyer A., Lehrbuch der Gährungschemie. S. 148.

nicht zugesetzt wurde, doch Pilzentwicklung, wenn auch eine schwache, stattfindet — nicht etwa weil diese Elemente überflüssig sind, sondern weil es eben unmöglich ist, diese beiden Stoffe aus einer Nährlösung auszuschalten. Genau wie mit dem Kalium und dem Schwefel verhält sich's auch, wie aus meinen Versuchen hervorgeht, mit dem Eisen.

Endlich läugnete man die Nothwendigkeit des Eisens auch deshalb ab, weil mitunter Eisen in der Asche von Bierhefen nicht nachgewiesen werden konnte.¹ Demgegenüber kann ich erwidern, dass ich etwa 30 den verschiedensten Abtheilungen des Pilzsystems entnommene Arten, darunter auch Bierhefe, auf ihren Eisengehalt in der Asche geprüft habe, und zwar ausnahmslos mit positivem Resultate.

Ich theile aus meinem Protokolle folgende Ernährungsversuche hier mit.

Erste Versuchsreihe, mit *Penicillium* sp.

Die Temperatur im finsternen Brutkasten betrug während der 50tägigen Versuchszeit 24—25° C.

Nährlösung:

500 g Wasser,

15 g Rohrzucker,

3 g Chlorammonium,²

0·25 g schwefelsaurer Magnesia,

0·25 g Monokaliumphosphat.

Mit je 50 *cm*³ dieser Lösung wurden Erlenmayer'sche Kolben beschickt, mit verschiedenen Eisenmengen versehen, mit Watte verschlossen, sterilisirt und schliesslich mit *Penicillium* geimpft.

Bereits am vierten Versuchstage war der Unterschied zwischen den eisenfreien und den eisenhaltigen Culturen ein höchst auffallender: in den Eisenculturen war eine üppige, nahezu geschlossene Pilzdecke vorhanden, während in den Gefässen ohne Eisenzusatz sich nur einige grünliche, allerdings

¹ Meyer A., l. c. S. 144.

² Das Chlorammonium wurde aus eisenfreiem ClH und eisenfreiem Ammoniak bereitet, das Salz überdies schliesslich sublimirt.

fructificierende Mycelinseln entwickelten. Später gestaltete sich der Unterschied noch auffallender.

Die Pilzdecke in den Eisensulfatculturen, namentlich in denen mit starkem Eisenzusatz, bietet ein eigenartiges Aussehen dar. Sie besteht nämlich aus neben- und übereinandergelagerten, zumeist unregelmässig wurstförmigen Inseln, welche je nach dem geringeren oder grösseren Eisensulfatzusatz grünlich oder weiss erscheinen. In den Eisensulfatculturen ist das Mycel knorpelig, dicht gefügt, die Zellen sind kurz, oft kugelig angeschwollen, breit, die Sporen fast farblos. In den »eisenfreien« Gefässen ist das Mycel relativ locker gefügt, weich, die Zellen sind lang, schmal, die Sporen grünlich.

Nr. des Versuches	Pilztrockensubstanz in Milligramm	Zugesetztes Eisenvitriol	Anmerkung
1	75	0	} Die Asche des Pilzes enthielt Eisen
2	110	0	
3	105	0	
4	115	0	
5	386	0·001 ⁰ / ₀ FeSO ₄	
6	334	0·001 »	
7	346	0·004 »	
8	336	0·004 »	
9	464	0·01 »	

Zweite Versuchsreihe mit *Penicillium* sp.

Nährlösung und Versuchsbedingungen nahezu wie vorher. Die Nährlösung enthielt anstatt 3 g ClNH₄ nur 0·3 g ClNH₄ in 500 g H₂O.

Nr. des Versuches	Pilztrocken- substanz in Milligramm	Zugesetztes Eisenvitriol	Anmerkung
1	40	0	} Die Pilzasche enthielt Eisen
2	59	0	
3	68	0	
4	198	0·002% Fe SO ₄	
5	148	0·002 »	
6	202	0·004 »	
7	199	0·004 »	
8	225	0·01 »	
9	232	0·02 »	

Dritte Versuchsreihe mit *Penicillium* sp.

Alles wie bei der zweiten Versuchsreihe, doch wurde anstatt Eisenvitriol — Eisenchlorid zugesetzt. Der etwas abnorme Charakter des *Penicillium*-Myceles, wie er sich auf Zusatz von Ferrosulfat einstellt, tritt bei Eisenchlorid nicht ein. Auch wirkt dieses auf das Pilzgewicht nicht so begünstigend ein wie das schwefelsaure Eisenoxydul.

Nr. des Versuches	Pilztrocken- substanz in Milligramm	Zusatz: Verdünnte Eisen- chloridlösung	Anmerkung
1	58	0	
2	56	0	
3	69	0	
4	58	0	
5	85	1 Tropfen	
6	87	2 »	
7	80	3 »	
8	122	6 »	
9	170	10 »	

Versuchsreihe mit Hefe.

Die Nährlösung war dieselbe wie bei der zweiten Versuchsreihe (S. 559). Die Impfung der sterilisirten Kölbchen erfolgte mittelst einer sterilisirten Platinöse von einer Presshefe-reincultur. Versuchsdauer 20 Tage.

Nr. des Versuches	Hefetrocken-substanz in Milligramm	Zusatz
1	51	0
2	65	0
3	52	0
4	150	0·001% FeSO ₄
5	135	0·002 »
6	148	0·004 »
7	127	0·008 »
8	99	1 Tropfen einer verd. Eisenchloridlösung.

Der Unterschied zwischen den beiden Culturen mit und ohne Eisen war schon nach wenigen Tagen in die Augen springend. In den Eisenculturen war die Entwicklung eine viel raschere und die Production von Hefe eine viel grössere. Nach 20 Tagen war die Hefemasse in den Gefässen mit FeSO₄ nahezu dreimal so gross als in den eisenfreien.¹ Bei mehrmaliger Wiederholung des Versuches ergab sich im Wesentlichen dasselbe Resultat.

Experimente mit *Mucor racemosus*, welcher auf Zuckernährlösungen sehr gut gedeiht, liessen die Einwirkung des Eisensulfates auf die massige Entwicklung und Fructification dieses Schimmelpilzes in ebenso prägnanter Weise erkennen wie bei *Aspergillus*, wesshalb ich von der Mittheilung weiterer Tabellen absehe.

¹ Diese Thatsache dürfte vielleicht von praktischer Bedeutung und für Hefefabrikanten von Interesse sein!

II.

Kann bei der Ernährung von *Aspergillus niger* das Eisen durch verwandte Metalle ersetzt werden?

Es schien mir wichtig, auch über diese Frage Untersuchungen anzustellen. Würden dieselben ein negatives Resultat ergeben, so läge darin ein Beweis dafür, dass eben nur das Eisen befähigt ist, eine zwar unbekannte, für den Chemismus des Pilzes aber fundamentale Rolle zu übernehmen, nicht aber seine Verwandten.

Am meisten verwandt mit dem Eisen sind bekanntlich Mangan, Nickel und Kobalt. Diese Elemente bilden ja mit dem Eisen zusammen unter den Metallen die sogenannte Eisen-Gruppe.

Wenn Eisen bei der Ernährung der Pilze durch irgend ein Element ersetzt werden könnte, dann wäre dies von den Elementen der Eisengruppe am ehesten zu erwarten. Ich experimentirte daher mit MnSO_4 , MnCl_2 , CoSO_4 , CoCl_2 und NiSO_4 . Da die genannten Verbindungen regelmässig kleine Eisenmengen beigemischt enthalten, so wurde auf ihre Reinigung die grösste Sorgfalt verwendet. Die reinsten im Handel erhältlichen Producte wurden je dreimal umkrystallisirt und erst in diesem Zustande zu den Versuchen benützt.

Als Versuchsobject diente *Aspergillus niger* van Tiegh.

Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung:

500 cm^3 Wasser,

20 g essigsaures Ammon,

0·25 g schwefelsaure Magnesia,

0·25 g Monokaliumphosphat.

Hiezu wurden noch gewöhnlich kleine, aus den Tabellen ersichtliche Mengen von Metallverbindungen der Eisengruppe hinzugesetzt.

Temperatur 25° C. Versuchsdauer 25—30 Tage. Bezüglich der sonstigen Versuchsbedingungen blieb alles so wie in Versuchsreihen des vorigen Capitels.

Versuchsreihe mit MnSO_4 .

Nr. des Versuches	Pilzgewicht in Milligramm	Zusatz zur Nährlösung
1	18	kein Zusatz
2	26	kein Zusatz
3	34	0·0012 ⁰ / ₀ MnSO_4
4	33	0·0025 >
5	27	0·005 >
6	22	0·0075 >
7	14	0·01 >
8	17	0·02 >
9	45	0·001 FeSO_4
10	65	0·005 >

Versuchsreihe mit MnCl_2 .

Nr. des Versuches	Pilzgewicht in Milligramm	Zusatz zur Nährlösung
1	15	kein Zusatz
2	12	kein Zusatz
3	8	0·001 ⁰ / ₀ MnCl_2
4	9	0·004 >
5	20	0·008 >
6	12	0·01 >
7	12	0·02 >
8	17	0·03 >
9	46	0·002 FeSO_4
10	54	0·004 >

Bei den beiden Versuchsreihen mit Mangan bildete sich in allen Kölbchen ein Mycel; in den eisenfreien und manganhaltigen ein relativ sehr kleines, gewöhnlich ohne Frucht-

körper, selten mit einigen spärlichen verkümmerten. In den eisenhaltigen Culturen hingegen entwickelte sich eine üppige Pilzdecke mit so reichlicher Fructification, dass die Decke ganz schwarzbraun war. Der Unterschied zwischen den »Eisen- und Manganculturen« war in die Augen springend. Dort war die Pilzdecke schwarzbraun, hier weiss.

Dass sich auch in den Gefässen ohne Zusatz und in denen mit Mangan doch ein Mycel entwickelte, wird erklärlich, wenn ich mittheile, dass dieses laut der Aschenprüfung stets kleine Mengen Eisen enthielt. Diese aus der Nährlösung trotz aller aufgewandten Sorgfalt nicht zu entfernenden Eisen Spuren genügen zum Aufkommen eines kleinen Mycels, nicht aber zur Entwicklung der Fortpflanzungsorgane.

Im Wesentlichen waren die Ergebnisse bei den Versuchen mit Nickel- und Kobaltsalzen dieselben wie bei denen mit Mangan; es genüge daher die Anführung der zahlenmässigen Belege.

Versuchsreihe mit CoSO_4 .

Nr. des Versuches	Pilzgewicht in Milligramm	Zusatz zur Nährlösung
1	25	kein Zusatz
2	9	0·001% CoSO_4
3	5	0·004 »
4	13	0·008 »
5	10	0·01 »
6	18	0·02 »
7	24	0·03 »
8	45	0·002 FeSO_4
9	57	0·004 »

Versuchsreihe mit CoCl_2 .

Nr. des Versuches	Pilzgewicht in Milligramm	Zusatz zur Nährlösung
1	20	kein Zusatz
2	12	kein Zusatz
3	21	0·001% CoCl_2
4	13	0·004 >
5	10	0·008 >
6	11	0·01 >
7	14	0·02 >
8	13	0·03 >
9	35	0·001 FeSO_4
10	54	0·004 >

Versuchsreihe mit NiSO_4 .

Nr. des Versuches	Pilzgewicht in Milligramm	Zusatz zur Nährlösung
1	13	kein Zusatz
2	19	kein Zusatz
3	20	0·001% NiSO_4
4	20	0·004 >
5	18	0·008 >
6	29	0·01 >
7	23	0·02 >
8	22	0·03 >
9	81	0·004 FeSO_4

Aus den vorhergehenden, in diesem Capitel mitgetheilten Versuchsreihen ergeben sich folgende zwei Sätze:

1. Zur normalen vollständigen Entwicklung von *Aspergillus niger* ist in Übereinstimmung mit meinen früheren Versuchen Eisen unbedingt nothwendig.

2. Das Eisen kann bei der Ernährung des *Aspergillus niger* durch die verwandten Metalle Mangan, Kobalt und Nickel nicht ersetzt werden.

III.

Über die Nothwendigkeit des Magnesiums für Pilze und über die Nichtersetzbarkeit dieses Elementes durch verwandte.

Wie bereits in der Einleitung darauf hingewiesen wurde, behauptet man heute allgemein mit Nägeli, dass die niederen Pilze nicht wie die höheren grünen Landpflanzen Magnesium und Calcium bedürfen, sondern mit einem der Elemente Magnesium, Calcium, Baryum oder Strontium ihr Auslangen finden. Mit anderen Worten: Für niedere Pilze ist nach Nägeli Magnesium nicht nothwendig, denn es kann durch seine nächsten Verwandten Calcium, Baryum oder Strontium ersetzt werden.

Auffallenderweise stützen sich diese Behauptungen Nägeli's nur auf eine einzige Versuchsreihe;¹ indess es wäre auch bei dieser der wahre Sachverhalt nicht verdeckt geblieben, wenn die von dem genannten Autor verwendeten Nährbestandtheile vorher sorgfältiger gereinigt worden wären.

Was das Calcium anbelangt, so lehren alle meine früheren und auch die in dieser Abhandlung bereits mitgetheilten Versuche, dass dieses Element für niedere Pilze nicht nothwendig ist. Es waren ja alle meine Nährlösungen, in welchen sich Pilze normal entwickelten, kalkfrei.² Als ich nun gelegentlich im Vertrauen auf die Richtigkeit der Nägeli'schen Angaben das Mg aus der Nährlösung fortliess und durch Ca ersetzte, war ich erstaunt, in den Mg-freien, aber Ca-hältigen Culturen keine Spur einer Pilzentwicklung wahrzunehmen.

Erste Versuchsreihe, mit *Penicillium* sp.

Die Nährlösung bestand aus

500 g Wasser,

10 g essigsauerm Ammoniak,

0·2 g SO_4Ca ,

0·2 g KH_2PO_4 ,

0·005 g SO_4Fe .

¹ L. c. S. 482 der botan. Mittheilungen.

² Auch spectraliter war Ca darin nicht nachzuweisen.

Sie wurde auf 10 Kölbchen vertheilt und mit *Penicillium* geimpft. Temperatur wie bei allen folgenden Versuchen 24 bis 25° C.

Nach 10 Tagen war auch nicht eine Spur einer Pilzentwicklung zu bemerken. Als ich die eine Hälfte der Gefässe mit einigen Tropfen einer Mg-Lösung versetzte, entwickelte sich in diesen letzteren alsbald eine geschlossene fructificirende Myceldecke, während in den Mg-freien, aber Ca-hältigen Gefässen nach einem Monat nicht einmal ein Auskeimen der Sporen stattfand.

Zweite Versuchsreihe, mit *Aspergillus niger*.

Versuchsbedingungen genau wie bei der 1. Versuchsreihe S. 566, Versuchsdauer 26 Tage.

Nr. des Versuches	Zugesetzte SO_4Mg	Pilzgewicht in Milligramm
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0·02 ₀	84
6	0·02	99
7	0·04	90
8	0·04	92
9	0·1	81
10	0·1	75

Das Ergebniss war, wie auch aus dem Gewichte der Pilzernte hervorgeht, ein sehr klares. Dasselbe lautet: ohne Mg wieder keine Entwicklung. Am Ende des Versuches wurden die Mg-freien Kölbchen mit einem Gemisch von verschiedenen Bacterien und Schimmelpilzsporen verschiedener Art geimpft. Selbst nach einem Monat trat keine Entwicklung ein, wohl aber, als zu den betreffenden Gefässen etwas MgSO_4 hinzugefügt wurde.

Dritte Versuchsreihe, mit *Aspergillus niger*.

Zusammensetzung der Nährlösung:

500 g H₂O,

10 g essigsaures Ammoniak,

0·2 g SO₄Ca,0·2 g SrCl₂,0·2 g KH₂PO₄,0·005 g FeSO₄.

Die Nährlösung enthielt also neben Ca noch Sr; wäre Mg durch eines dieser beiden Elemente vertretbar, so müsste Pilzentwicklung in derselben eintreten. Das war aber nicht der Fall, Pilzentwicklung trat erst ein, wenn Mg zugesetzt wurde.¹ Versuchsdauer 33 Tage.

Nr. des Ver- suches	Zugesetzte SO ₄ Mg	Pilzgewicht in Milli- gramm
1	0 ⁰ / ₀	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0·01 ⁰ / ₀	94
6	0 01	90
7	0·02	90
8	0·02	112
9	0·02	108
10	0·1	115

¹ In voller Übereinstimmung mit diesen Thatsachen steht auch eine Beobachtung, welche Winogradsky seinerzeit machte, als er Culturversuche mit *Mycoderma vini* anstellte. Als er in diesen Culturen das Magnesiumsulfat durch die entsprechenden Verbindungen des Ca und Sr ersetzte, unterblieb jede Entwicklung. Winogradsky bezeichnet daher mit Recht das Mg für die Ernährung von *Mycoderma vini* als unentbehrliches, das Ca hingegen als entbehrliches Element. Winogradsky S., Über die Wirkung äusserer Einflüsse auf die Entwicklung von *Mycoderma vini*. Arbeiten der St. Petersburger Naturf. Gesellsch., Bd. XIV, 1884, Heft 2, S. 132—135. (Russisch.) Ein Referat darüber im Bot. Centralblatt, 1884, XX. Bd., S. 165.

Im Wesentlichen zu denselben Anschauungen wie Winogradsky gelangte bezüglich des Mg und Ca auch Adolf Mayer bei seinen Versuchen mit Hefe. Siehe dessen Lehrbuch der Gärungschemie, Heidelberg 1879, S. 146 bis 147 und 154.

Am Ende des Versuches wurden die Kölbchen 1—4 mit einer kleinen Menge eines Gemisches von Bakterien und Schimmelpilzsporen versetzt. Auch hier konnte beobachtet werden, dass eine Entwicklung dieser Keime erst stattfand, wenn Mg hinzugefügt wurde.

Vierte Versuchsreihe, mit *Aspergillus niger*.

Um über die eventuelle Vertretbarkeit des Mg durch Ba ins Klare zu kommen, musste die Nährlösung so gewählt werden, dass der Schwefel nicht in Form eines Sulfates geboten wird, da sonst die Schwefelsäure durch das verwendete Bariumchlorid gefällt würde. Ich bot daher den Pilzen den Schwefel in Form von schwefelsäurefreiem Natriumthiosulfat. Nährlösung:

- 500 g H₂O,
- 10 g essigsäures Ammoniak,
- 0·2 g Na₂S₂O₃,
- 0·2 g KH₂PO₄,
- 0·2 g BaCl₂,
- 0·005 g Fe₂Cl₆.

Versuchsdauer 36 Tage. Die folgende Tabelle zeigt, dass auch von einer Ersetzbarkeit des Mg durch Ba nicht die Rede sein kann. Dasselbe ergeben Versuche mit *Penicillium* und Bakterien.

Nr. des Versuches	Zugesetztes Mg Cl ₂	Pilzgewicht in Milligramm
1	0 ⁰ / ₀	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0·025 ⁰ / ₀	53
6	0·025	48
7	0·05	51
8	0·01	54
9	0·01	56
10	Kolben verunglückt	

Fünfte Versuchsreihe, mit *Penicillium*.

Bei allen Versuchen dieses Capitels wurde bisher den Pilzen als Kohlenstoffverbindung essigsäures Ammoniak geboten. Die Versuche, die ich überdies mit Zucker durchführte, lehrten im Wesentlichen dasselbe, nur war das Ergebniss nicht so exact, da auch in den Mg-freien Zuckernährlösungen Mycelbildung stattfand, aber nur diese, denn zu einer Fruchtbildung kam es auch hier nicht. Es kann wohl nach dem Vorhergehenden keinem Zweifel unterliegen, dass die theilweise Entwicklung des Pilzes auf Rechnung jener Mg-Spuren zu stellen ist, von welchen der Zucker trotz der sorgfältigsten Reinigung nicht zu befreien war. Die Nährlösung bestand aus

500 g H₂O,
 15 g Rohrzucker,
 0·2 g SO₄ Ca,
 0·2 g SrCl₂,
 0·2 g KH₂PO₄,
 0·2 g KNO₃,
 0·001 g FeSO₄.

Versuchsdauer 34 Tage.

Nr. des Versuches	Zugesetzte SO ₄ Mg	Pilzgewicht in Milli-gramm
1	0	65
2	0	66
3	0	35
4	0	50
5	0·02 ⁰ / ₀	218
6	>	194
7	0·04	152
8	>	180
9	0·1	197
10	>	223

Durch die vorstehenden Versuche wurde bewiesen, dass Mg einen integrirenden Bestandtheil der minerali-

schen Nahrung für niedere Pilze bildet und dass von einer Ersetzbarkeit dieses Elementes durch seine nächsten Verwandten Ca, Ba oder Sr nicht die Rede sein kann.

Nach diesem Ergebniss verliert auch die Möglichkeit, dass Mg durch die ihm nahestehenden Elemente aus der Zinkgruppe, nämlich durch Zink, Beryllium oder Cadmium vertreten werden könnte, schon a priori an Wahrscheinlichkeit. Den Beweis für die Nichtersetzbarkeit des Magnesiums durch die Metalle der Zinkgruppe habe ich mir durch zahlreiche Versuche verschafft. Es seien davon nur folgende mitgeteilt.

Sechste Versuchsreihe, mit *Aspergillus niger*.

Nährlösung:

500 g H₂O,

10 g essigsäures Ammoniak,

0·2 g SO₄Zn,

0·2 g KH₂PO₄,

0·005 g SO₄Fe.

Versuchsdauer 19 Tage. Die Lösung enthält anstatt Mg Zink.

Nr. des Versuches	Zugesetzte SO ₄ Mg	Pilzgewicht in Milligramm
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0·08%	79
7	0·08	68
8	0·1	67
9	0·1	62
10	Versuch verunglückt	

Bei 1—5 unterblieb selbst die Keimung der Sporen, während in den Gefässen 6—9 reichliche Entwicklung des Pilzes

stattfind. Das für den Pilz unentbehrliche Mg kann demnach auch nicht durch Zn ersetzt werden. Desgleichen auch nicht durch Be, wie folgende Versuchsreihe zeigt.

Siebente Versuchsreihe, mit *Aspergillus niger*.

Nährlösung wie bei Versuchsreihe 6, aber anstatt SO_4Zn enthält sie SO_4Be .

Nr. des Versuches	Zugesetzte SO_4Mg	Pilzgewicht in Milligramm
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0·02%	78
6	0·02	93
7	0·04	96
8	0·04	93
9	0·04	97
10	0·04	99

Von besonderem Interesse ist die folgende Versuchsreihe. Abgesehen davon, dass sie die Nichtersetzbarkeit des Mg durch Be beweist, lehrt sie überdies, dass Cadmium die Entwicklung von *Aspergillus* nicht nur nicht ermöglicht, sondern überhaupt verhindert. Das Cadmium ist für Pilze ein Gift. Versuchsdauer 30 Tage, Nährlösung wie bei Versuchsreihe 6, doch enthält diese anstatt SO_4Mg schwefelsaures Cadmium.

Nr. des Versuches	Zugesetzte SO_4Mg	Pilzgewicht in Milligramm	Anmerkung
1	0	0	Keine Keimung
2	0	0	»
3	0	0	»
4	0	0	»
5	0·02%	0	»
6	0·02	0	»
7	0·02	0	»
8	0·04	0	»
9	0 04	0	»
10	0·04	0	»

In der Nährlösung dieser Versuchsreihe befanden sich 0.04% SO_4Cd . Ich habe mich jedoch durch besondere Versuche überzeugt, dass das SO_4Cd noch in viel verdünnteren Lösungen (0.02% , 0.01% und 0.002%) auf *Aspergillus*, *Penicillium* und verschiedene Bacterien giftig wirkt. CdCl_2 wirkt ebenso. Nach Knop¹ sind Cd-Salze giftig für Maispflanzen.

Alle in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse beziehen sich auf niedere Pilze. Ob die Resultate auch für höhere Pilze, z. B. für Hutpilze, Geltung haben, wird so lange unentschieden bleiben, als es nicht gelingt, höhere Pilze in Nährlösungen von genau bekannter Zusammensetzung zu ziehen.

Hiemit schliesse ich meine erste Abhandlung über die mineralischen Nährstoffe der niederen Pilze. In einer zweiten Arbeit soll unter Anderem vor Allem die Angabe Nägeli's einer genaueren Prüfung unterzogen werden, ob bei der Ernährung der Pilze Kalium durch Cäsium und Rubidium vertretbar ist. Diese sowie andere einschlägige Untersuchungen behalte ich mir vor.

Zusammenfassung der Resultate.

1. In Übereinstimmung mit meinen früheren Ernährungsversuchen erwies sich das Eisen als ein nothwendiger Bestandtheil der Nahrung für niedere Pilze. Es geht daraus hervor, dass das Eisen auch in dem chemischen Getriebe des Pilzes eine hervorragende Function erfüllen muss, mit deren Ausfall Störungen eintreten, die sich in einer mangelhaften Entwicklung äussern.

2. Das Eisen kann bei der Ernährung der niederen Pilze durch die nächstverwandten Metalle Mangan, Kobalt oder Nickel nicht vertreten werden. Auch darin gleicht der Pilz der grünen Pflanze.

3. Nach der Anschauung von Nägeli, die sich mit der gegenwärtig in der Physiologie allgemein vorgetragenen deckt, ist Magnesium kein integrireder Bestandtheil der Pilznahrung,

¹ Loew O., Ein natürliches System der Giftwirkungen München, 1893, S. 37.

da dasselbe durch Calcium, Baryum oder Strontium ersetzt werden kann. Die vorstehenden Versuche lassen jedoch keinen Zweifel darüber, dass Nägeli's Ansicht falsch ist, da ohne Magnesium nicht einmal ein Auskeimen der Pilzsporen stattfindet und dieses Element weder durch die Metalle der alkalischen Erden (Calcium, Strontium, Baryum), noch durch die der Zinkgruppe (Zink, Beryllium, Cadmium) vertreten werden kann.

4. Cadmiumsalze wirken schon in verdünnten Lösungen auf Pilze giftig.

5. Calcium ist für die Ernährung der niederen Pilze nicht nothwendig, eine Thatsache, die einen bemerkenswerthen Unterschied im Nährelementenbedürfniss der niederen Pilze gegenüber den höheren grünen Landpflanzen abgibt. Dies ist aber auch der einzige, denn die anderen neun Elemente, welche die grüne Phanerogame zu ihrer Ernährung bedarf (C, H, O, N, S, K, P, Mg, Fe) benöthigt auch der niedere Pilz.

Ob Kalium, wie Nägeli angibt, durch Cäsium und Rubidium vertretbar ist, bleibt vorläufig, so lange nicht genauere Versuche vorliegen, fraglich.